pSINsi-hH1 DNA

Code No. 3660
Size：20 μg

Shipping at －20℃
Store at －20℃

＊ 2 years from date of receipt under proper storage conditions.

Lot No.

Concentration : μg/μl

Volume : μl

Regarding protocol, please refer to the product manual supplied with this vector.

Description :
pSINsi vector series is a vector for expression of hairpin RNA using a RNA polymerase III (pol III) promoter. This vector series was developed from a self-inactive retrovirus vector plasmid and contains neomycin-resistant gene as a marker. By inserting synthesized oligo DNA sequence for hairpin RNA expression into the downstream of the pol III promoter, siRNA expression retrovirus vector plasmid is constructed. The obtained retrovirus vector plasmid for siRNA expression is used to prepare recombinant retrovirus with Retrovirus Packaging Kit Eco/Ampho（Cat. #6160/6161）

The retrovirus vector plasmids of pSINsi vector series are deleted with the promoter activity of 3' LTR U3 region. In the state of provirus incorporated into chromosome after transcribed, 5' LTR promoter activity disappears and mRNA derived from provirus cannot be transcribed. Accordingly, only the hairpin RNA from the pol III promoter and the neomycin resistant gene from SV40 promoter are transcribed. The expressed hairpin RNA is prepared to siRNA through digestion by a Dicer present in a cell.

Three kinds of plasmid vector are available in pSINsi vector series. Each carries each different promoter. A customer can choose an appropriate vector depending on a kind of target cell and an experimental purpose.
- pSINsi-hH1 DNA (Cat. #3660) :
  contains human H1 promoter (Accesion S68670)
- pSINsi-hU6 DNA (Cat. #3661) :
  contains human U6 promoter (Accession X07425)
- pSINsi-mU6 DNA (Cat. #3222) :
  contains mouse U6 promoter (Accession X06980)

Form : 10 mM Tris-HCl, pH8.0
1 mM EDTA

Preparation : Purified by ion exchange column treatment

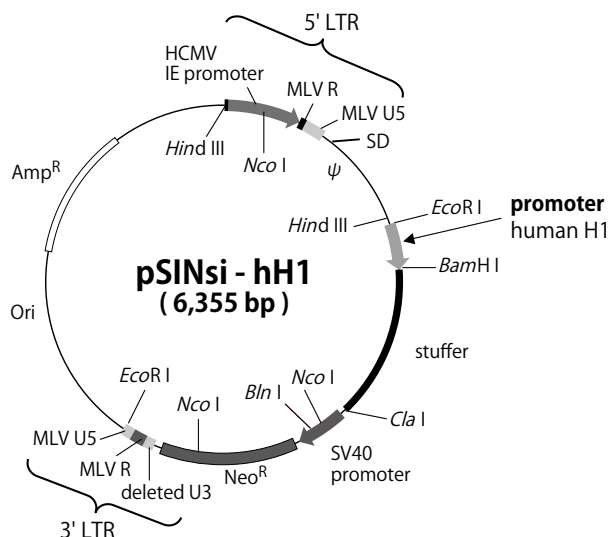
Chain length : 6,355 bp

Purity :
- Confirmed that the promoter on this vector is the same as human H1-promoter (Accession S68670) by dideoxy sequencing method.
- Confirmed to be cleaved at a single site by restriction enzymes *Bam*H I. Also confirmed that a Stuffer is excised with *Bam*H I/ *Cla* I.
- Confirmed that the vector is transfected into 293T cell with Retrovirus Packaging Kit, and then virus vector is emitted out of the cell.

Applications :
Retrovirus-mediated siRNA expression in mammalian cells.

Reference :

1) Brummelkamp *et al*. (2002) *Science* **296**, 550-553
2) Lee *et al*. (2002) *Nat. Biotech*. **20**, 500-505
3) Paddison *et al*. (2002) *Genes and Dev*. **16**, 948-958
4) Paul *et al*. (2002) *Nat. Biotech*. **20**, 505-508
5) Sui *et al*. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 5515-5520
6) Kawasaki *et al*. (2003) *Nucleic Acids Res*. **31**, 700-707

Vector map :

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

[L21] pDON Vecter
This product is covered by the claims of U.S. Patent No. 6,190,907, 6,451,595 and their foreign counterpart patent claims.

Note
This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.
Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC.
If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 543 7247 or from our website at www.takara-bio.com .
The viral supernatants produced by this retroviral vector could, contain potentially hazardous recombinant virus depending on an insert gene. Due caution must be exercised in this production and handling of recombinant retrovirus. Please follow the guideline for experiments using recombinant DNA issued by the relevant authorities and the safety committee of your organization or your country in using this product.
Takara is not liable for any accident or damage caused by the use of this product.

pSINsi-hH1 DNA

Code No. 3660
Size：20 μg

Shipping at − 20℃
Store at − 20℃

＊適切に保存し、受取り後 2 年を目途にご使用ください。

Lot No. （英文面をご覧ください。）
濃度： （英文面をご覧ください。）
容量： （英文面をご覧ください。）

本製品の使用方法については、製品添付の取扱説明書をご確認ください。

● 製品説明

pSINsi ベクターシリーズは、自己不活型レトロウイルスベクタープラスミドを基本骨格とし、RNA polymerase III（pol III）系のプロモーターによりヘアピン型 RNA を発現させるベクターである。pol III 系のプロモーターの下流のクローニングサイトにヘアピン型 RNA を発現させるための合成オリゴ DNA 配列を挿入することによって、siRNA 発現レトロウイルスベクタープラスミドが得られる。マーカー遺伝子としてはネオマイシン耐性遺伝子を搭載している。siRNA 発現レトロウイルスベクタープラスミドから、Retrovirus Packaging Kit Eco/Ampho（製品コード 6160/6161）などを利用して組換えレトロウイルスを調製することができる。

pSINsi ベクターシリーズのレトロウイルスベクタープラスミドは 3’ LTR U3 領域のプロモーター活性を欠損させているため、逆転写後、染色体に組み込まれたプロウイルスの状態では 5’ LTR のプロモーター活性が消失し、プロウイルス由来の mRNA は転写されなくなっており、pol III 系のプロモーターからのヘアピン型 RNA と SV40 プロモーターからのネオマイシン耐性遺伝子のみが転写される。発現したヘアピン型 RNA は細胞内の Dicer による分解を受けて siRNA となる。

pSINsi ベクターシリーズではプロモーターの異なる 3 種のプラスミドベクターを用意している。

・pSINsi-hH1 DNA（製品コード 3660）：
　　human H1 promoter（Accession S68670）を搭載。
・pSINsi-hU6 DNA（製品コード 3661）：
　　humanU6 promoter（Accession X07425）を搭載。
・pSINsi-mU6 DNA（製品コード 366 2）：
　　mouse U6 promoter（Accession X06980）を搭載。

● 形状　10 mM　Tris-HCl, pH8.0
　　　　　1 mM　EDTA

● 調製　イオン交換カラムにより精製

● 鎖長　6,355 bp

● 純度

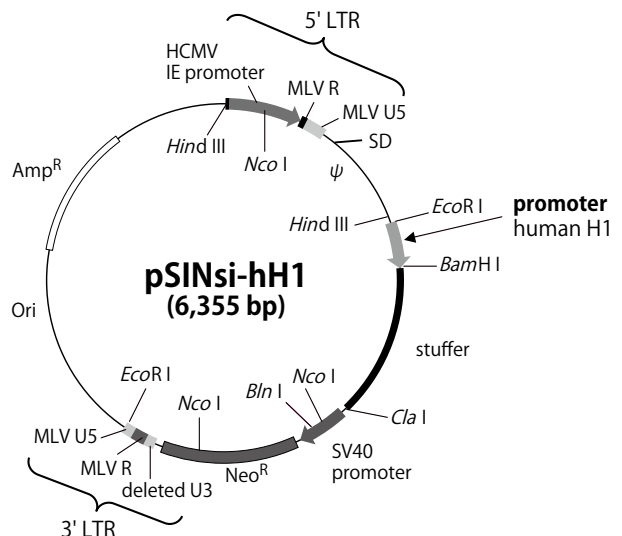
1. dideoxy 法によるシーケンスの結果、human H1 promoter（Accession S68670）と一致することを確認している。
2. 制限酵素 *Bam*H I にて 1 カ所切断できることを確認している。また、*Bam*H I / *Cla* I にて Stuffer が切り出されることを確認している。
3. Retrovirus Packaging Kit を用いて 293T 細胞へトランスフェクトし、ウイルスベクターが細胞外へ放出されてくることを確認している。

● 用途

レトロウイルスベクターを介した動物細胞での siRNA の発現

● 参考文献

1) Brummelkamp *et al*. (2002) *Science* **296**, 550-553
2) Lee *et al*. (2002) *Nat. Biotech*. **20**, 500-505
3) Paddison *et al*. (2002) *Genes and Dev*. **16**, 948-958
4) Paul *et al*. (2002) *Nat. Biotech*. **20**, 505-508
5) Sui *et al*. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 5515-5520
6) Kawasaki *et al*. (2003) *Nucleic Acids Res*. **31**, 700-707

● pSINsi-hH1 DNA のベクターマップ

● 注意

・本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・本レトロウイルスベクターの系によって生産されるウイルス上清は、挿入断片によっては危険なウイルスを含む恐れがあるため、組換えレトロウイルスの生産と取扱いには、適切な処置をとる必要があります。ご利用の際は、管轄省庁および組織内の安全委員会の定める組換え DNA 実験指針に従ってください。
・本製品の使用によって生じたいかなる事故、損害についても、弊社では責任を負いかねますので、ご了承の上ご使用ください。

v201104